

Különlenyomat az Orvosi Hetilap 1937. évi április 10-i, 15-ik számából

A Ferenc József Tudományegyetem belgyógyászati klinikájának közleménye. (Igazgató: Rusznyák István ny. r. tanár.).

Vérnyomássüllyesztő hormon a parotisban.

A kallikrein (padutin) nem pankreas hormon.

Irták: *Korányi András dr.*, egyet. magántanár,
Szenes Tibor dr. és *B. Hatz Ella dr.* chem.

Előbbi, részben már megjelent, részben megjelenés alatt álló közleményeinkben az i. v. adagolt emberi nyál hatását vizsgáltuk a cukor glikogen anyagcserére vonatkozólag. Már ezen kísérleteink ismertetése alkalmával említettük, hogy a befecskendőtt emberi nyál házinyúlak vérnyomását süllyesztette. Ezt akkor egyrészt a mucinosisus nyál hatására létrejövő máj pangással, másrészt a nyál egyes szervesen (nitrit, rhodanid) alkatrészének közismert vérnyomáscsökkentő hatásával magyaráztuk. Némely kísérleti állatnak azonban olyan nagyfokban csökkent a vérnyomása, hogy az az említett okokkal nem volt teljesen hihető.

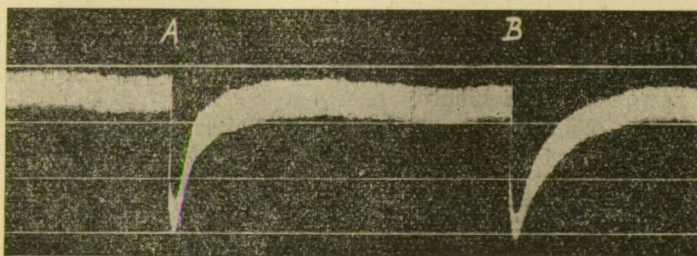
Míg előbbi kísérleteinket kázinyúlakon végeztük s a vérnyomást vértelen úton a Grant-Rotschild-féle eljárással nyúlak fülén mértük, addig alább ismertetendő kísérleteinkben a nyál vérnyomáscsökkentő hatását véres úton kymographion alkalmazásával kutyák carotisán végeztük. Szükségesnek látszott áttérni a kutyakísérletekre azért, mert a vérnyomáscsökkenés — mint az alábbi görbék mutatják — a nyál beadása után hirtelen következik be és rendszerint gyorsan szűnik is meg s így a Grant-Rotschild-féle módszer, mellyel csak egyes időpontban határozható meg a vérnyomás, nem alkalmas — mint jelen esetben is — olyan kísérletekre, ahol a vérnyomásváltozás folytatódó megfigyelésére van szükség. De szükségessé vált a kutyakísérletre áttérés azon okból is, mert a kallikrein kísérletekre az egyetlen alkalmas állat (*Frey és Kraut*) a kutya.

Kísérleteink menete a következő volt: kutyákon urethan-pernocton narkosisban kiboncoltuk az arteria

carotist s ebbe egy, a kymographion manometerével kapcsolatos kanült kötöttük be. Ezután a vena jugularisba ugyancsak bekötöttünk egy, az infúziós készülékünkkel összeköttetésben levő kanült. A kísérletek legnagyobb részében a tracheában kötött kanülon át a kutya magától légzett s csak kivételes esetekben, amikor az altatás következtében az állat légzése romlott vagy szabálytalanná vált, kapcsoltuk be a mesterséges lélegeztető készüléket. (Az állatok hőmérsékletét letakarással és melegítéssel állandó szinten tartottuk.) Ezzel az eljárással az állatok vérnyomása órákig állandó, s így a kísérletek elvégzésére alkalmas volt.

Míg előbbi kísérleteinkben szüretlen nyálat fecskendeztünk kísérleti állatok viszerébe, addig most erőyes összerázás után egyszerű szűrőpapíron át leszűrt emberi nyálat fecskendeztünk a kutyának. Az injeciált nyál mennyisége minden egyes kísérletünk alkalmával 0.5 ccm volt.

A nyál befecskedezése után az állat vérnyomása azonnal süllyedni kezd, minek foka a különböző egyének nyála szerint más és más volt, sőt egyes esetekben fejtűnő különbséget mutatott (l. 1. ábrát).



1. ábra.

Ezek után szükségessé vált annak megállapítása, hogy tulajdonképen milyen anyag okozza a vérnyomás-süllyedést. Mint már mondtuk, a mucinosus nyál hatására létrejövő májpangás nem magyarázhatta ez esetekben a vérnyomás süllyedést, mert a mucint a nyál szűrésével eltávolítottuk. A nyál ismert szerveetlen vérnyomáscsökkentő alkatrészei: (rhodanid, nitrit) igen kis mennyiségük miatt szintén nem magyarázhatják ezt a jelentős vérnyomáscsökkenést.

Számbavéve a szervezetben előforduló ismert vérnyomáscsökkentő anyagokat, mint a histamint, cholint,

acetylcholin, kallicreint, adenosint, arenylsavakat stb. sorra elvégeztük az ezekre az anyagokra jellemző vizsgálatokat az emberi nyálban. Nagy meglepetésünkre az eddig pankreas hormonnak tartott kallicreint találtuk meg az emberi nyálban s így azt hisszük, hogy a nyál vérnyomáscsökkentő hatóanyaga csak a kallicrein lehet.

A kallicreint Frey, Kraut és munkatársai még 1925-ben fedezték fel. A vizelet vérnyomáscsökkentő hatását vizsgálva azt találták, hogy a vizeletben állandóan egy vérnyomáscsökkentő anyag van, sőt későbbi vizsgálataink alkalmával ugyancsak egy vérnyomáscsökkentő anyagot találtak a pankreas cystaiban, ami szerintük azonos volt a vizeletbeli vérnyomáscsökkentővel. Amikor a pankreasban is nagymennyiségben találták meg ezt a vérnyomáscsökkentő anyagot, azt a feltevésüket nyilvánították, hogy ezen általuk felfedezett anyag a pankreas vérkeringésre ható hormonja. A pankreasbeli eredet kifejezésére e hormonnak a kallicrein nevet adták, később azonban az iparban Padutin nevet kapott. De ugyancsak kimutatták Frey, Kraut és munkatársaik, hogy a pankreasból nagymennyiségű kallicrein ömlik a patkóbélbe s ennek bennékében állandóan igen nagy mennyiség van belőle. További vizsgálataink során sikerült a kallicreint a serumban is kimutatni, azonban míg az előbb említett helyeken a kallicrein activ formában van jelen, azaz vérnyomáscsökkentőleg hat a kísérleti állatokra, addig a vérben egy szintén állandóan jelenlevő thermolabilis inactivatorhoz kötve inactiv, vagyis a vérnyomásra hatástalan állapotban van jelen.

Frey, Kraut és munkatársaik megállapítása szerint kallicreinnekk kell tekinteni azt az anyagot, amely a következő tulajdonságokkal bír:

1. Kutyák vérnyomását i. v. adva süllyeszti.
2. Nem dializálható.
3. Serummal, vérrel, marha nyirokmirigy vagy nyálmirigy inactivatorral összehozva inactivvá válik.
4. A fenti anyagokkal történő inactiválás után acetonnal ismét activvá tehető.
5. Thermolabilis.
6. Vérnyomáscsökkentő hatását atropinnal kezelt állaton is kifejti.

Az emberi nyálat ennek a hat vizsgálati feltételnek alávetve azt találtuk, hogy az minden esetben positiv reactiót adott.

ad. 1. Az eddig vizsgált — csaknem 60 esetben — nyál minden alkalommal süllyesztette a vérnyomást, ugyanekkor a pulsus amplitudo növekedett s a légzés mélyült.

ad. 2. 24 óráig tartó dialysálás után (így pergament, celophan papíron) a nyál vérnyomáscsökkentő hatása megmaradt.

ad. 3. A vizsgálandó nyálat friss emberi serummal összehozva $\frac{3}{4}$ óra alatt elveszti vérnyomássüllyesztő hatását (inactiválódik).

ad. 4. Az inactivált nyál aceton hatására ismét hatásossá válik, vagyis az inactiv nyálhoz ötször annyi mennyiségű acetont adva, ismét visszakapja vérnyomáscsökkentő és egyéb, a kallikreinre jellemző sajátosságát.

ad. 5. 15 percig nyílt lángon főzve elpusztul.

ad. 6. Kutyának 2 mgr. atropint befecskendezve, utána injiciálva a nyálat, a nyál vérnyomáscsökkentő hatása változatlanul érvényesül. Az atropinozás teljeségéről a nyálbefecskendezés előtt és után adott cholin injectio hatástalansága révén győződünk meg. Ezen vizsgálatok alapján tehát bizonyítottunk láttuk, hogy a nyál vérnyomáscsökkentő anyaga a kallikreinnel, padutinnal azonos.

Hogy a nyálban egyúttal jelenlévő diastasenak van-e szerepe a vérnyomás csökkentésében, ennek eldöntésére a következő kísérletet végeztük:

Ha az emberi nyálat forrásig melegítjük, akkor diastatikus hatását elveszti, ugyanakkor azonban a kallikrein még nem pusztul el, azaz a nyál vérnyomáscsökkentő hatása teljesen megmarad. Ha a nyálat serummal hozzuk össze, akkor inactiválódik, vagyis a serum inactivátora felfüggeszti a nyálkallikrein vérnyomáscsökkentő hatását. A nyál diastatikus hatására azonban ez az inactiválás egyáltalában nincs befolyással.

Annak bizonyítására, hogy a kallikrein egy, az emberi nyál állandó alkotórésze, 60 betegen végeztünk ilyen vizsgálatot szolgál.

A nyál kallikrein tartalmának mérését Frey. és munkatársai által leírt módon állandósított kallikreinkészítménnyel (Padutin-Bayer) való összehasonlítás útján végeztük: a befecskendezett nyál annyi kallikrein egyiséget (K. E.) tartalmaz, mint ahány egység Padutin befecskendezése szükséges ahhoz, hogy ugyanakkora vérnyomássüllyedést idézen elő, mint amekkorát a befecsken-

I. Táblázat.

Nem	Szám	Diagnosis	K. E. 1 ccm.	
			nyálban	serumban
1		Ulcus duodeni	1.0	
2		Nephritis ac.	0.6	
3		Nephritis ac.	1.2	
4		Diabetes mell.	1.6	
5		Gastritis chr.	2.0	
6		Nephritis chr.	—	
7		Gastritis chr.	1.6	
8		Diabetes insip.	—	1.1
9		Anaemia pern.	1.6	
10		Polyarthrit. ac.	1.0	
11		Nephritis ac.	3.0	
12		Diabetes mell.	1.8	
		Endarteriitis obl.	1.8	
13		Nephritis ac.	2.2	
14		Hyperthyreosis	0.5	1.8
15		Diabetes mell.	1.5	
16		Insuff, et sten. aortae in st. incomp.	2.0	
17		Ikterus simplex	1.3	
18		Purpura thrombopen.	2.1	
19		Insuff. bicusp. c. sten ost. ven sin.	1.5	
20		Morbus Basedowi	1.6	1.0
21		Insuff. aortae in stad. incomp.	1.7	
22		Insuff. bicusp. in stad. incomp.	4.5	
23		Diabetes mell.	1.7	
24		Hypertonia	1.6	1.2
25		Asthma bronch.	2.3	
26		Cholecyst. calc.	1.3	
27		Cholecyst ac.	0.6	
28		Cholelithiasis	0.5	
29		Ulcus ventriculi Melaena	1.2	
30		Ulcus ventriculi	0.7	
31		Cystitis	1.2	
32		Cholecystitis	1.2	
33		Haemoglobinuria paroxysmalis	3.6	2.4
34		Hypertonia	0.2	
35		Endokarditis ac.	1.1	
36		Tumor hepatis	2.2	
37		Hypertonia	1.5	
38		Pleuritis exsud.	1.4	
39		Hypertonia essent.	1.1	
40		Diabetes mell.	2.0	
		Morbus Basedowi	2.0	
41		Diabetes mell.	1.3	
42		Gastritis chr.	1.8	
43		Spondylitis tbc.	2.0	
44		Malaria tert.	1.6	
45		Influenta	0.9	
46		Arteriosklerosis	2.3	1.3
		Aneurysma aortae	2.3	1.3
47		Neurasthenia	1.6	
48		Struma Basedowific	0.8	
49		Anaemia pern.	1.3	
50		Ulcus ventriculi	1.5	

dezett nyál okozott. (1. ábra. 0.5 ccm. nyál 1.5 K. E.-t tartalmaz.)

Mint e táblázatból látható, az emberi nyál 1 ccm-je a fenti táblázat 50 esete szerint középértékben 1.6 K. E.-t tartalmaz. De mint látható, az egyes értékek általában 0.3—3.0 K. E. között ingadoznak. A napi produktum tehát — 1000 ccm. napi nyáltermelést véve alapul — 300—3000 K. E.-ig váltakozik.

Ki kell még térnünk annak megállapítására, hogy a kallikreinek napi 10 K. E.-ben szokásos peroralis alkalmazása teljesen céltalan akkor, amikor a nyállal ennek a kallikrein mennyiségnek sokszorosa jut peroralisan a szervezetbe. Előfordult azonban egy betegünkkel az is, hogy a nyál kallikrein tartalmát 4 egymás utáni napon vizsgálva, a fenti átlagokat sokszorosan meghaladó kallikrein mennyiséget találtuk. Így az első napon 34, a másodikon 45, a harmadikon 80 és a negyediken 30 K. E.-t mutattunk ki e betegünk nyálának 1 ccm-ében. Még néhány esetben találtunk az átlagosnál jóval nagyobb kallikreintartalmat a nyálban, két esetünkben viszont egyáltalán nem tudtunk benne kallikreint kimutatni.

Tekintve, hogy a nyál nagyrészt a parotismirigy terméke, megvizsgáltuk egyes állat parotismirigyt, mennyi kallikreint tartalmaz. Hihetőnek látszott előttünk t. i. az a föltevés, hogy ebben a mirigyben, nagymennyiségű kallikreint kell találni. Megerősített vélekedésünkben az a hasonlatosság, amely a parotis és a pancreas szöveti szerkezete és működése között van. Erre vonatkozó kísérleteinket úgy végeztük, hogy frissen levágott disznóból és marhából kivettük a parotismirigyet, a környező zsírtól gondosan megtisztítottuk, majd finoman megdaráltuk s ebből a pépből destillált vízzel 1:3, 1:5, 1:10-szeres hígításokat készítettünk. Az így kapott anyagot jó erősen összeráztuk, majd 10—15 percig tartó állás után centrifugáltuk és szűrtük.

Ezt a vizes parotiskivonatot aztán a kutya vénájába fecskendeztük és legtöbb esetünkben nagyfokú vérnyomáscsökkenést észleltünk. Más esetekben azonban csak egész kis vérnyomáscsökkenés jött létre. Frey és Kraut közleményeiből ismerve azt a tényt, hogy az állati parotismirigyekben inaktivátor van jelen, föltételeztük, hogy a parotisan inaktív állapotban lévő kallikrein is jelen lehet. Ezért a vizes kivonatot, illetve a benne föltételezett inaktív kallikreint Frey és Kraut szerint acetonnal

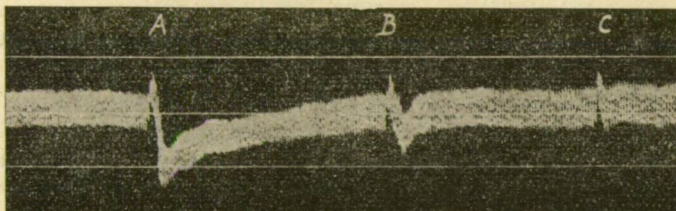
való activáló eljárásnak vetettük alá. Eredményeink igazolták sejtésünket, mert oly esetekben mikor az egyszerű vizes kivonat jóformán teljesen hatástalan volt az állatok vérnyomására, ez a vizes kivonat acetonos activálási eljárás után meglepő vérnyomáscsökkenést hozott létre. Ebből azt állapíthattuk meg, hogy a parotis kallikreint részben activ, részben inactiv állapotban tartalmaz. A kallikrein e kétféle alakjának aránya a sorozatos vizsgálatok alkalmával nem mutatkozott állandónak: hol az activ, hol az inactiv kallikrein volt több.

Kivonatunk vérnyomáscsökkentő hatását kallikreinegységben (K. E.) mérve kiszámítottuk, hogy 1 gr. friss sertésparotis vérnyomáscsökkentő hatása 150 K. E.-nek felel meg. Más esetekben 40—170 K. E.-nek felelt meg.

További vizsgálataink során arra törekedtünk, hogy a parotis vérnyomáscsökkentő anyagát a lehetőség szerint elkülönítsük, hogy így a parotis egyéb anyagainak zavaró hatását kiküszöbölve, a parotis általunk kallikreinek tartott vérnyomáscsökkentőjét tovább vizsgálhassuk. Evégből *Kraut* módszerét követve szintúgy jártunk el, mint ő a pankreas-kallikrein előállításakor.

A parotis földolgozása *Kraut*, *Frey*, *Werle* által a pankreasnál leírt tisztítási eljárással teljesen hasonló módon történt. A környező szövetektől, zsírtól gondosan megtisztított parotist húsdarálón kétszer megdaráltuk, majd súlyát megmértük. Hatszoros mennyiségű destillált vízzel leöntöttük és azzal két órán át rázógép segítségével erősen összeráztuk. Ülepítés és dekantálás után még egyszer ugyanannyi acetont, majd acetont és aether egyforma mennyiségét, s végül kétszer aethert — mindig az eredeti acetont mennyiségével egyenlő mennyiséget — öntöttünk a parotispépre. A folyadékokat 1—2 órán át hagytuk a parotispépen és közben többször jól összeráztuk. Az aether eltávolítása után a pépet, vékony rétegben kiterítettük, megszáritottuk és finom porrá zúztuk. A kapott őrleményt destillált vízzel 1:10 arányúra hígítottuk, majd 1% toluolt adva hozzá, ismét jól összeráztuk. Éjszakára állni hagytuk, majd másnap lecentrifugáltuk s 2-es sz. jenai üvegszűrőn át megszürtük. A szüredékhez a foszfatok eltávolítása végett magnesia mixturát adtunk, majd megszürtük és közömbösítettük. Ezután az oldathoz kb. 45%-nyi mennyiségben 4%-os uranylacetátot öntöttünk. Többször jól összeráztuk, éjszakára állni hagytuk. A felül lévő tiszta folyadékot leöntöttük s a többit lecentrifugáltuk. A csapadékhoz a

kallikrein leválasztására 10%-os diamonphosphatot adtunk, mégpedig a használt uranylacetat-oldat mennyiségének 80%-át. A csapadékos elegyet 2 órán át rázógépen ráztuk, utána lecentrifugáltuk, a folyadékhoz magnezia mixturát adtunk, centrifugáltunk és kevés toluoit adtunk és ezután 24 órán át dialysáltuk.



2. ábra.

Ezzel az eljárással azonban még nem sikerült kellő tisztaságú készítményre szert tennünk s ezirányú vizsgálataink még folyamatban vannak. A rendelkezésünkre álló — többé-kevésbé tisztátalan anyaggal azonban — mind az egyszerű vizes kivonattal, mind a *Frey* és *Kraut* eljárása szerint előállított kivonattal elvégeztük azon vizsgálatokat, amelyek a kallikrein identifikálásához szükségesek. Ezek eredményeilt a következőkben foglalhatjuk össze:

1. Parotiskivonataink kutyákon i. v. adva nagyfokú vérnyomáscsökkenést hoztak létre.

2. 44 órás dialysálás után is megtartották vérnyomáscsökkentő hatásukat.

3. Kivonataink serummal összehozva inaktiválhatók voltak, de a *Frey* és *Kraut* előírása szerint $\frac{3}{4}$ óráig történő inaktiválás a vérnyomáscsökkentő hatásnak csak 50—60%-át függesztette fel. A teljes inaktiválás azonban csak 1—4 óra alatt 37°-os thermostatban jött létre. (L. 2. sz. ábra.)

4. Inaktiválás után a parotiskivonat acetonnal ismét aktiválódott.

5. 3—10 percig nyílt lángon forralva, vérnyomáscsökkentő hatását a kivonat elvesztette.

6. Vérnyomáscsökkentő hatását a kivonat atropinnal kezelt állaton is kifejtette.

Parotiskivonatunk tehát megfelel mindazon kritériumnak, mely megzabja azt, hogy valamely vérnyomáscsökkentő anyagot kallikreinnek lehessen nevezni.

Vizsgálataink alapján bizonyítottnak látszik, hogy a pankreas nem kizárólagos székhelye a kallikrein termelésnek, hanem ebben a parotismirigynek is része van. Különbség a két mirigy ezirányú működésében az, hogy míg a pankreas csak aktív kallikreint tartalmaz, addig a parotisban a kallikrein mind aktív, mind inaktív formában jelen van. A nyálban azonban a kallikrein mindig aktív formában kerül kiválasztásra.

Végző következtetésként megállapíthatjuk, hogy Frey, Kraut és munkatársainak azon megállapításai, hogy a kallikrein pankreas hormon, jelen vizsgálataink alapján tarthatatlanná vált.

Meg kell még említenünk, hogy kísérleteink lezárása után értesültünk arról, hogy Werle és Rhoden hasonló kísérletekről számoltak be. A parotisban kimutatott kallikrein mennyiség azonban az ő vizsgálataik szerint sokkal kevesebb, (0.03—0.2 K. E. gr. parotisban), mint amilyen mennyiséget mi találtunk. (150 K. E. 1 gr. parotisban). Ennek magyarázata abban rejlik, hogy fenti szerzők valószínűleg csak az aktív állapotban lévő kallikreint tudták kimutatni a parotisban, mi azonban az inaktív állapotú kallikreint is főlsszabadítottuk. Boller és Pülgertoffer viszont arról számol be a Klin. Wschr. legutóbbi számában, hogy a marhaparotismirigy kivonata a gyomorsecretiót fokozza. Fenti kísérleti eredményeink alapján célszerűnek látnók, ha fenti szerzők vizsgálataikat kiterjesztenék arra is, hogy a Sanabo-Chinoin gyár által készített parotiskivonat nem rendelkezik-e azon biológiai sajátságokkal, mint amelyekről közleményünkben beszámoltunk.

Irodalom: Korányi, Szablics, Szenes: Z. Exper. Med. 1935. — Frey és Kraut: Hoppe-Seylers Z. 157. 1926. — Kraut, Frey és Banner: Hoppe-Seylers Z. 175. 1928. — Frey és Kraut: Münch. Med. Wschr. 75, 763. 1928. — Frey és Kraut: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 133. 1. 1928. — Frey: Münch. Med. Wschr. 1929. II. 1951. — Kraut, Frey és Werle: Hoppe-Seylers Z. 183. 97. 1930. — Frey, Kraut és Schultz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 158. 334. 1930. — Kraut, Frey és Werle: Hoppe-Seylers Z. 192. 1930. — Frey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 167. 64. 1930. — Kraut, Frey, Bauer és Schultz: Hoppe-Seylers Z. 205. 99. 1932. — Frey-Kraut és Werle: Klin. Wschr. I. 846. 1932. — Kraut, Frey és Werle: Hoppe-Seylers Z. 222. — Frey: Münch. Med. Wschr. 125. I. 1933. — Werle és Rhoden: Biochem. Z. 286. 1936. — Boller és Pülgertoffer: Klin. Wschr. 44. 1608. 1936.

